



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE [MEDICINA]**

**Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de  
*Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa*  
comparado con Cefepime. Estudio in vitro**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
MÉDICO CIRUJANO**

**AUTOR:**

**Erick Arturo Sánchez Álvarez**

**ASESOR:**

**[Mg. Jaime Polo Gamboa ]**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

**Enfermedades infecciosas y tropicales**

**[Trujillo] - Perú**

[2018]

## **PÁGINA DEL JURADO**

---

[Mg. Jaime Polo Gamboa ]

**Presidente.**

---

[Mg. Ricci Ponce de Lopez]

**Secretario.**

---

[Dra. Ana Peralta Iparraguirre]

**Vocal.**

## **DEDICATORIA**

[Dedico de manera especial, este trabajo de investigación a mis Docentes que con su sapiencia inculcaron en mí las bases del conocimiento para ser puesto al servicio del quehacer médico y se constituya en herramienta para contribuir al bienestar de la salud de las personas.

A mis padres, que con su esfuerzo, su experiencia, su comprensión, sentaron las bases de mi responsabilidad, para cumplir mis metas, que hoy se ven cristalizadas con la graduación de médico, labor que me anima a sumar esfuerzos al servicio de los más débiles.]

## **AGRADECIMIENTO**

[Al finalizar este trabajo de investigación, aprovecho este espacio, para agradecer en primer lugar a Dios, por guiar mi vida, por darme la fortaleza para emprender con éxito mis aspiraciones de ser profesional y poner al servicio de la comunidad mi experiencia.

A mis Padres; Angelmira y Arturo, por ser los promotores de mis anhelos y mis sueños, hoy vistos realidad, por su esfuerzo cotidiano, su comprensión, su incesante aliento para ver coronado mis metas.

A toda mi familia, por sus oraciones, consejos y palabras, que contribuyeron a servir de aliento para lograr mis más grande anhelo de ser profesional]

## **DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD**

Yo **ERICK ARTURO SÁNCHEZ ALVAREZ** con Documento nacional de identidad N° 73207206 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de [Ciencias Médicas] - Escuela de [Medicina], declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

[Trujillo, Diciembre 2018]

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada [“Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con Cefepime. Estudio in vitro”], la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de [Médico Cirujano].

# ÍNDICE

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>3</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>4</b>
<b>DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....</b>	<b>5</b>
<b>PRESENTACIÓN .....</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE .....</b>	<b>7</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>9</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Realidad Problemática .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 Trabajos previos .....</b>	<b>12</b>
<b>1.3 Teorías relacionadas al tema .....</b>	<b>14</b>
<b>1.4 Formulación del Problema .....</b>	<b>20</b>
<b>1.5 Justificación del estudio.....</b>	<b>20</b>
<b>1.6 Hipótesis.....</b>	<b>21</b>
<b>1.7 Objetivos.....</b>	<b>21</b>
<b>1.7.1 OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>21</b>
<b>1.7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>21</b>
<b>II. MÉTODO.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Diseño de Investigación .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2. Variables, Operacionalización .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3. OPERACIONALIZACION.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4. Población y muestra .....</b>	<b>24</b>
<b>2.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad .....</b>	<b>26</b>
<b>2.6. VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO.....</b>	<b>29</b>
<b>2.7. Métodos de análisis de datos .....</b>	<b>29</b>
<b>2.8. Aspectos éticos.....</b>	<b>30</b>
<b>III. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
<b>IV. DISCUSIÓN.....</b>	<b>34</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>39</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>40</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>50</b>

|

## RESUMEN

[La investigación titulada “Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con Cefepime. Estudio in vitro” realizado en los laboratorios de la Universidad Nacional de Trujillo (2018), tiene como objetivo, determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* y compararlo con cefepime, estudio in vitro, con lo cual se busca descubrir un nuevo compuesto que permita el tratamiento de esta bacteria. El tipo de investigación es básica, analítica, con un diseño experimental, la población de estudio está constituida por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* cultivadas en laboratorio, en un total de 10 repeticiones por cada concentración, con el fin de determinar el efecto del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*), sobre la *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados de la investigación demostraron que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) obtenido por el método de destilación por arrastre a las diferentes diluciones (100%,75%,50%,25%) no presenta efecto inhibitorio sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, con lo que se valida la hipótesis nula planteada en esta investigación.]

**Palabras Clave:** [Efecto antibacteriano, *Rosmarinus officinalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Cefepime.]



## ABSTRACT

[The research entitled "Antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Rosmarinus officinalis* (Romero) on *Pseudomonas aeruginosa* compared with Cefepime. In vitro study "carried out in the laboratories of the National University of Trujillo (2018), aims to determine the antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) on *Pseudomonas aeruginosa* and compare it with cefepime, study in vitro, which seeks to discover a new compound that allows the treatment of this bacteria. The type of research is basic, analytical, with an experimental design, the study population consists of strains of *Pseudomonas aeruginosa* grown in the laboratory, in a total of 10 repetitions for each concentration, in order to determine the effect of rosemary acetite (*Rosmarinus officinalis*), on *Pseudomonas aeruginosa*. The results of the investigation showed that the essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Romero) obtained by the method of distillation by drag to the different dilutions (100%, 75%, 50%, 25%) does not have an inhibitory effect on the strain of *Pseudomonas aeruginosa*, which validates the null hypothesis raised in this investigation.]

**Keywords:** [: Antibacterial effect, *Rosmarinus officinalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Cefepime.]

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Realidad Problemática

La *Pseudomonas aeruginosa* es una de las bacterias gram negativas intrahospitalarios más extendidas a nivel mundial, siendo la causa de diversas infecciones en distintas partes del cuerpo humano tales como neumonía, infecciones del tracto urinario, infecciones de piel sobre todo en pacientes quemados, infecciones oculares como la queratitis y hasta bacteriemia. Esta amplia colonización se relaciona con estancias prolongadas en las unidades de cuidados intensivos (UCI) asociado a respirador mecánico con terapia antibiótica de amplio espectro previo o algún grado de inmunodepresión. Es allí donde se han reportado tasas de colonización de hasta un 54% y una tasa de mortalidad del 50 al 70%. <sup>(1)</sup>

La *Pseudomonas aeruginosa* es considerada como uno de las bacterias intrahospitalarias más globalmente extendidas; ocasiona una amplia gama de infecciones, algunas tan severas como sepsis incluso llegando al choque séptico, cuadro que se complica aún más, debido a que este patógeno presenta resistencia intrínseca a un gran variedad de grupos antibióticos y una gran capacidad de desarrollar nuevos mecanismos de resistencia, es también asociada a altos índices de mortalidad lo que la convierte en un serio problema de salud pública, la diversas patologías causadas por este patógeno se encuentran entre las principales causas de morbilidad y de discapacidad en pacientes hospitalizados. Esta bacteria puede multiplicarse en la mayor parte de los ambientes húmedos que contengan mínimas cantidades de compuestos orgánicos, ya que pueden emplear cualquier fuente de carbono. <sup>(2)</sup>

Tal es su distribución que a nivel mundial es el agente etiológico principal en el 21% de las infecciones de las vías respiratorias bajas (neumonía), 10% en las infecciones del tracto urinario (ITU), 8% en infecciones postoperatorias, 3% en bacteriemias y en UCI es la segunda causa de infección intrahospitalaria, causando 30% de neumonías, 19% de las infecciones del tracto urinario (ITU) y 10% de bacteriemias. <sup>(3)</sup>

Además de su amplia distribución nosocomial, actualmente se presenta un problema mayor que es la presencia de cepas resistentes de *P. aeruginosa*. Según el reciente informe del Centro de Control de Enfermedades (CDC) existen alrededor de 51,000 infecciones asociadas a *P. aeruginosa* cada año en los Estados Unidos, de los cuales alrededor de 6000 (13%) son causada por cepas de *P. aeruginosa* multidrogo resistente (MDR), acortando las posibilidades terapéuticas e incrementando la tasa de mortalidad. <sup>(4)</sup>

En Latinoamérica se observan resultados alarmantemente. Similares estudios realizados en México arrojan tasas de infección intrahospitalaria por *P. aeruginosa* de hasta un 19.83%, con altos porcentajes de resistencia a antibióticos de amplio espectro tales como la amicacina imipenem y piperacilina/tazobactama en un 62,9%, 54,2% y 19,2% respectivamente. Estudios realizado en Brasil también reportan casos de resistencia destacando a la ceftazidima y al imipenem con tasas de con 90,7%, 82,7% respectivamente, que se relaciona con lo encontrado en Chile donde se reportó una resistencia alta a ciprofloxacina y levofloxacina del 78,9% y 68,4% respectivamente. Mientras que en Cuba se reportó una resistencia a ceftazidima más baja de tan solo un 12,9%.<sup>(1,5)</sup>

En Perú se han realizado pocos estudios, pero en un estudio realizado en Hospital Arzobispo Loayza a 122 pacientes con cultivo positivo para *P. aeruginosa* se encontró que en 62.5% de ellos la infección fue intrahospitalaria y solo en un 3.6% fue adquirida en la comunidad. Las tasas de resistencia que se mencionan en este estudio son de 19.2% para ceftazidima en los pacientes en UCI. <sup>(6)</sup>

Escalante et al, (2011) estudiaron 51 muestras de *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes a ceftazidima y con sensibilidad mínima a carbapenémicos, en seis nosocomios de la ciudad de Lima (Perú), buscando la detección de genes productores de beta lactamasas mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa. Los resultados obtenidos fueron que el 15,7%

de las muestras presentaron genes productores de beta lactamasas además de una alarmante tasa de resistencia a los fármacos mencionados.<sup>(7)</sup>

## 1.2 Trabajos previos

### 1.2.1 INTERNACIONAL

Ozgur Ceylan et al. (Finlandia, 2014) Estudiaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* contra el *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* mediante técnica de difusión de disco, Obteniendo como resultado que se inhibió en un 58,3% la actividad de dichas bacterias por los aceites esenciales.<sup>(9)</sup>

Guerra, (España, 2011), evaluaron la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de distintas plantas entre ellas el *Rosmarinus officinallis* (romero), usando la técnica de hidrodestilación, obteniendo halos de inhibición máximos de 33.75 mm para el aceites esenciales de *Rosmarinus officinallis* frente a *Staphylococcus aureus*.<sup>(15)</sup>

Castaño P., et al. Colombia (2010) Evaluaron el efecto antimicrobiano del extracto etanólico y del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinali* “Romero” sobre distintos microorganismos sobre microorganismos, entre ellos la *Pseudomonas aeruginosa*, encontrando que aceite esencial tiene un amplio espectro de acción antimicrobiana con halos de inhibición entre 18 y 21 mm tanto para bacterias Gram positivas y negativas.<sup>(8)</sup>

### 1.2.2 NACIONAL

Rosales, Lima-Perú (2017), realizo un estudio in vitro de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero (*Rosmarinus oficcinalis*) contra la cepa ATCC 25175 del *Streptococcus mutans* .Para lo cual utilizó el aceite

esencial de romero al 100% comparándolo con clorhexidina al 0.12%. Concluyendo que el aceite esencial mostró actividad antibacteriana en los cultivos a las 72 horas con un halo de inhibición promedio de 19.3mm mientras que la clorhexidina tuvo mayor actividad antibacteriana a las 168 horas con un halo de inhibición promedio de 18.4mm. <sup>(16)</sup>

Rodríguez, et al Lima-Perú (2014) evaluaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. “Romero” sobre cepas de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* sometiéndolas a distintas concentraciones (5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45 y 50 mg/ml). Encontrando que el extracto no presentaba ningún efecto inhibitorio sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y de *Staphylococcus aureus*; pero si sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* observándose halos de inhibición de 8.67mm. y 12.33mm a concentraciones de 5 mg/ml y 35 mg/ml respectivamente. <sup>(11)</sup>

Suárez, Lima-Perú (2013), evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” sobre *Pseudomonas aeruginosa* obtenida de pacientes con bolsa periodontal en un estudio in vitro por el método de difusión en disco donde obtuvo un halo de inhibición de 17.0 mm para todos los sembríos. <sup>(12)</sup>

Cordeiro, et al Lima-Perú (2006). Evaluaron la actividad antibacteriana de una disolución alcohólica de las hojas de diversos especímenes vegetales entre ellos el *Rosmarinus officinalis* “Romero”, frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* obteniendo que todas las bacterias fueron inhibidas, en su mayoría por el *Rosmarinus officinalis* “Romero” con un promedio de halos de inhibición de 23.35 mm. <sup>(10)</sup>

### 1.2.3 LOCAL

Salirrosas, Trujillo-Perú (2016), estudio el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero), sobre *Enterococcus Faecalis*, utilizando el método de difusión de discos. Donde llego a la conclusión de que el aceite esencial de romero posee actividad inhibitoria sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus Faecalis* encontrando un promedio de 24.35mm en los halos de inhibición. <sup>(14)</sup>

## 1.3 Teorías relacionadas al tema

La *Pseudomonas aeruginosa* fue aislada por primera vez en cultivos de heridas cutáneas en 1882 por Gessard. <sup>(17)</sup> La *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo gramnegativo recto o ligeramente curvo que por lo general es móvil con un tamaño de entre 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$  que crece mejor en medios aerobios produciendo ácidos a partir de azúcares como glucosa y fructosa.

Es un patógeno sin capacidad de fermentación de carbohidratos, perteneciente a la familia *Pseudomonadaceae*, cuyo nombre proviene del griego “pseudo”, que significa “falso”, “mona” que quiere decir “unidad” o “único” ya que estos gérmenes suelen presentarse en parejas de células que semejen una célula única y aeruginosa que hace referencia a “color de cobre oxidado” por el característico color que toman sus colonias en los cultivos.

Se encuentran por lo general en el suelo, en materia orgánica en descomposición, en el agua y dentro del ambiente hospitalario, en ambientes húmedos como, los lavabos, los baños, los utensilios de limpieza de pisos, los equipos de hemodiálisis y de terapia respiratoria e incluso en las soluciones desinfectantes. Es poco común que las personas sean portadoras de este microorganismo salvo en pacientes hospitalizados o con algún grado de inmunodepresión. <sup>(18, 19)</sup>

Los factores de virulencia de la *Pseudomonas aeruginosa* son diversos, por lo cual la patogenicidad de esta bacteria puede ser considerada multifactorial, a pesar de esto podemos clasificarlos en adhesinas y endotoxinas. Los más estudiados son el flagelo, las fimbrias o *pili*, la matriz exopolisacárida, las endotoxinas, algunas enzimas y las biopelículas.

Dentro de los factores que favorecen la adhesión está el alginato, que facilita la adherencia a la superficie epitelial pulmonar e inhibe la fagocitosis actuando sobre los anticuerpos y atenuando la respuesta del hospedero, además sirve de barrera contra los antibióticos, en el grupo de las exotoxinas son de destacar la exotoxina A que lisa el endotelio de las células alveolares e inhibe la síntesis de proteínas disminuyendo la respuesta inflamatoria; aunado a esto existe el sistema de secreción de tipo III, que es el encargado de la secreción de toxinas a nivel intracelular, donde destacan la exotoxina S, T y U que rompen el citoesqueleto de actina de la célula, bloquean la fagocitosis favorecen la respuesta inflamatoria causando la lisis celular. Y por último están las biopelículas que son agrupaciones bacterianas en la matriz, cuya función es dificultar la acción antimicrobiana de algunos fármacos. <sup>(1, 18)</sup>

Las *Pseudomonas aeruginosa* pueden colonizar diferentes partes del cuerpo humano, sin embargo la colonización en personas sanas es baja varían de 3-5% ya que en su gran mayoría la infección se relaciona con el ambiente hospitalario y particular en pacientes inmunodeprimidos, largos periodos de hospitalización principalmente en unidades de cuidados intensivos (UCI), pacientes sometidos a diversos procedimientos invasivos o con antecedentes de infecciones graves y uso previo de antibioticoterapia de amplio espectro. Es en este medio donde es responsable de hasta el 10% al 20% de las infecciones por gramnegativos, hasta un 13.2% a 22.6% en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y produce una mortalidad del 30% al 40%, fundamentalmente en las primeras 24 a 48 horas, sobre todo cuando el foco de infección es pulmonar y el tratamiento antimicrobiano no es adecuado. <sup>(1, 20, 21, 22)</sup>

Dentro de las infecciones podemos destacar la de las vías respiratorias, que es su localización más frecuente y se puede presentar en la neumonía asociada a ventilador mecánico y en pacientes que presentan factores de riesgo para presentar infecciones a repetición como aquellos que padecen de fibrosis quística o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Su infección en el tracto urinario se relaciona con el sondaje vesical dentro del periodo de hospitalización, tratamiento antibiótico previo, obstrucción de vías urinarias por cálculos o malformaciones anatómicas, manipulación instrumentada o cirugía de vías urinarias o prostáticas y pacientes con diabetes mellitus tipos 2 (DTM2) mal o no controlada. La infección de piel y partes blandas pueden ir desde la infección de una herida quirúrgica hasta la de quemaduras donde la *Pseudomonas aeruginosa* coloniza el tejido muerto o aquel con mala perfusión sanguínea. La infección de oído que puede ir desde otitis externa, otitis media aguda hasta la mastoiditis. Las infecciones oculares se relacionan con inoculación directa por traumatismo o lesiones causadas por el uso de lentes de contacto que llevan rápidamente a la pérdida de la visión. <sup>(19,20)</sup>

El mecanismo de resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa* es multifactorial que incluyen enzimas modificadoras, como las enzimas modificadoras de aminoglucósidos, lactamasas de espectro extendido y Metalolactamasas y adquisición de genes de resistencia a los antibióticos codificados por cromosomas o plásmidos. Además, las mutaciones cromosómicas como la mutación en ADN girasa y topoisomerasa IV que le otorgan la resistencia a las quinolonas y la menor permeabilidad de la membrana para los antibióticos también contribuye resistencia antibiótica. Las bombas Efflux MexAB-OprM, MexEF-OprN y MexCD-OprJ le confieren resistencia a los antibióticos lactámicos y la regulación positiva de las mismas le confiere resistencia a las fluoroquinolonas y en parte a los aminoglucósidos. Las lactamasas y las enzimas PSE confieren resistencia a carbapenems, cefalosporinas y aztreonam. Además la pérdida de OprD, una porina que forma estrecheces transmembrana está asociada con la resistencia a la imipenem y susceptibilidad reducida al meropenem. <sup>(3)</sup>



La cefepima es un antibiótico perteneciente a la familia de las cefalosporina específicamente a las de cuarta generación, descubierto en 1994, de uso exclusivamente endovenoso, cuyo espectro de acción engloba tanto a bacterias gram positivas como negativas aeróbicas. En lo que respecta a su mecanismo de acción actúa de la misma forma que el resto de cefalosporinas y penicilinas, inhibiendo la tercera etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana (la síntesis de poliglicanos), mediante su unión selectiva a las llamadas proteínas de unión para la penicilina tipo 3 (PBP 3), que son las responsables de diversidad de procesos de síntesis de dicha pared, de este modo causa la lisis bacteriana. <sup>(26)}</sup>

El espectro ampliado que presenta este fármaco para ciertos patógenos como la *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, la *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Neisseria gonorrhoeae*, *enterobacter* y *citrobacter* se explica gracias a que la cefepima presenta una mayor capacidad de penetración de la membrana bacteriana debido a la presencia de los llamados “zwitterion” en su estructura química que son iones bipolares, es decir que presentan tanto cargas positivas como negativas pero que son eléctricamente neutros, lo cual hace que tengan mejor capacidad de paso a través de canales de porinas de la pared celular sobre todo en gram negativas, otra de las propiedades de esta droga es su gran resistencia a la degradación por las beta-lactamasas bacterianas, ya que no solo es capaz de unirse a las PBP-3 antes mencionadas, sino también a las PBP-2 haciéndola así superior a otras cefalosporinas y una droga de elección para el uso contra patógenos generalmente resistentes como la *Pseudomonas aeruginosa* y la *Klebsiella pneumoniae*. <sup>(27)}</sup>

Estudios como el realizado por la Sociedad de Medicina Interna de Buenos Aires, concluyen, en que los altos niveles plasmáticos y de distribución alcanzados por esta droga, además de su baja unión proteica la estabilidad ante una posible lisis por las beta-lactamasas bacteriana, hacen de esta cefalosporina una muy buena opción para el manejo de infecciones nosocomiales por

patógenos resistente y recomiendan su reserva para infecciones graves o cuadros sépticos. <sup>(28)</sup>

El *Rosmarinus officinalis* "romero" es una planta mediterránea pertenece a la familia Lamiaceae, cuyo nombre etimológicamente proviene del griego "rhops" que significa "arbusto" y "myrinos" que significa "marino", llamada así porque crece cerca de las costas, así mismo el término "officinalis" se aplica a muchas especies que son consideradas medicinales. Es arbusto con tallos ovalados, hojas planas, agudas, alargadas, pequeñas con forma de lanceolada de color verde rutilante, alcanza un tamaño que varía entre 0.5 a 1 metro de altura, florece dos veces al año (primavera y otoño) y sus flores se caracterizan por presentar un color azul claro con pequeñas manchas violáceas. <sup>(26,27)</sup>

El aceite esencial de romero fue obtenido por primera vez en el año 1330 por Ramón Llull y fue inicialmente empleado en perfumería. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría lo utilizó para menguar los síntomas de su reumatismo por lo cual también es conocido como "El agua de la reina de Hungría" por lo cual se convirtió en uno de los remedios más usados en aquella época empleándolo en una variedad de preparados. En la actualidad su uso a quedado relegado únicamente a su uso en gastronomía y como aceite esencial. <sup>(27)</sup>

El romero crece en climas tropicales, subtropicales y húmedos. Su distribución es amplia abarcando la región del mediterráneo, sur de Europa, norte de África, Asia Menor y Sudamérica. En el Perú crece en las tres regiones naturales y hasta los 3,500 msnm, en las laderas de tierras bajas y en lugares secos. <sup>(27, 28)</sup>

Se han detectado variedad de componentes químicos constituyentes del Romero siendo clasificados en: ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos triterpénicos, alcoholes, triterpénicos y aceite esencial, siendo este último el componente más estudiado y donde se han descrito variedad de moléculas activas presentes. <sup>(26,27)</sup>

Dentro de los componentes con efecto antibacteriano destacan los terpenoides (diterpenos y triterpenos) cuya acción implica la lisis de la membrana celular bacteriana por una serie de compuestos lipofílicos. Los compuestos fenólicos y polifenólicos relacionados con la toxicidad contra virus, bacterias y hongos debido a que inhiben la actividad enzimática de la pared y además tiene una interacción aún no especificada con las proteínas estructurales de dicha membrana. Los flavonoides que forman un complejo con las proteínas solubles y extracelulares de la pared celular bacteriana, con un efecto bacteriostático. Los alcaloides cuyo efecto antimicrobiano se atribuye a su capacidad para interferir con la síntesis del DNA intercalándose con este. Los taninos, relacionados con la capacidad de inactivar las adhesinas microbianas, algunas enzimas y proteínas transportadoras además de formar complejos con la pared celular bacteriana. Aceites esenciales formados por una variedad de sustancias como: Pineno, canfeno, cineol, alcanfor de romero, limoneno, eucaliptol, borneol, que tienen propiedades anti-inflamatorias al interferir con la liberación de mediadores. <sup>(26,27)</sup>

En conclusión, la capacidad antimicrobiana del Romero se debe a la acción de degradación la pared celular bacteriana, ejerciendo este efecto tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas ; aunque estudios demuestran mayor efectividad sobre Gram negativas , su acción citotóxica afecta directamente a la replicación bacteriana en específico a la fase de mitosis además la lisis de membrana conlleva a una pérdida de iones de potasio, aumentan la permeabilidad, disminuyendo su potencial de acción lo que conlleva a que las bacterias pierdan su capacidad de movimiento, transporte transmembrana y síntesis de ATP, facilitando de este modo el ataque inmunológico de las células del hospedero y potenciando el efecto de los antibióticos. <sup>(27)</sup>

Se considera los preparados a base de romero carecen de toxicidad; sin embargo, existen reportes de reacciones alérgicas, especialmente expresadas como dermatitis de contacto. Asimismo, no es recomendable su uso en personas con litiasis biliar debido a que algunos componentes del Romero generan un

aumento en el peristaltismo promoviendo un mayor vaciado de la vesícula biliar lo cual puede conllevar a la expulsión de los cálculos vesiculares hacia las vías biliares y producir su obstrucción. (22,29)

#### **1.4 Formulación del Problema**

¿Tiene efecto antibacteriano el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con cefepime?

#### **1.5 Justificación del estudio**

La infección nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa* es una de las complicaciones más frecuente en las unidades de cuidados intensivos, tanto a nivel mundial como a nivel nacional y local, ya que la tasa de colonización de esta bacteria va en aumento; aunado a esto existe también un aumento de la resistencia antibiótica por parte de la misma, lo que trae como consecuencia que cada vez se reduzca más las opciones terapéuticas y se opte por el uso de terapias cada vez más agresivas, prolongadas o el uso de la polifarmacia para obtener un resultado terapéutico óptimo, complicando el cuadro clínico de los pacientes, alargando su estancia hospitalaria, e incrementado la tasa de mortalidad.

El uso de terapias alternativas a surgido como una respuesta a esta realidad, ya que es sabido que muchas de las plantas que encontramos comúnmente en nuestro medio, principalmente aromáticas; presentan propiedad antimicrobianas, tanto para gérmenes gram positivos como gram negativos y un ejemplo de esto es el *Rosmarinus officinalis*, mejor conocido como romero, que ha demostrado gran actividad antibacteriana frente a diversos agentes en diversos estudios in vitro, pero que a su vez muestran resultados discordante sobre su efecto frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Es debido a esto, que en el presente estudio se evaluará el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* "romero", sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado a su vez con cefepime, lo cual permitirá demostrar un posible uso como alternativa de tratamiento, disminuyendo los diversos efectos adversos de los fármacos comúnmente usados o su uso como coadyuvante a tratamientos ya establecidos.

## 1.6 Hipótesis

**H1:** El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene igual o mayor efecto antibacteriano sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con cefepime, estudio in vitro.

**H0:** El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene menor o no tiene efecto antibacteriano sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con cefepime, estudio in vitro.

## 1.7 Objetivos

### 1.7.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* y compararlo con cefepime, estudio in vitro.

### 1.7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa*.
- Establecer el efecto antibacteriano del cefepime sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

- Comparar el efecto antibacteriano del cefepime y del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

## II. MÉTODO

### 2.1. Diseño de Investigación

- **TIPO DE INVESTIGACIÓN:** El tipo de investigación es básica, analítica-experimental. Básica, en razón de busca ampliar el conocimiento sobre la realidad, así como de los fenómenos de la naturaleza, permite el aumento del conocimiento para responder a preguntas o para que los conocimientos adquiridos permitan ser aplicados en otras investigaciones. (Hernández, et.al, 2014). Analítica, porque trata de entender las situaciones en términos de las relaciones de sus componentes e intenta descubrir los elementos que componen cada totalidad y las interconexiones que da cuenta de su integración. (Bunge, 1981).
- **DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:** La investigación fue de diseño experimental y ha requerido de la manipulación intencional de las variables para analizar sus posibles resultados. Se llevó a cabo para analizar si una o más variables independientes afectan a una o más variables dependientes y por qué lo hacen. Se realiza un diseño con post prueba y grupo control con repeticiones múltiples.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

Donde:

RG: Grupos de estudio

X1: Dilución del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 100%

X2: Dilución del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 75%

X3: Dilución del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%

X4: Dilución del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 25%

X5: Tratamiento con cefepime

X6: Control negativo: agua destilada

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

## 2.2. Variables, Operacionalización

### VARIABLE

- **Variable Independiente:** Aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero)
  - a) No farmacológico: Aceite esencial
  - b) Farmacológico: Cefepime (Gold estándar).
  
- **VARIABLE DEPENDIENTE:**
  - a) Efecto antibacteriano sobre *Pseudomonas aeruginosa*
  - c) Eficacia: Inhibición del crecimiento bacteriano mayor/igual a 17 mm.
  - d) No eficaz: Inhibición del crecimiento bacteriano menor/igual a 16 mm.

## 2.3. OPERACIONALIZACION

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<i>Aceite esencial de las hojas de Rosmarinus officinalis "romero"</i>	<p>Los aceites esenciales son una mezcla de metabolitos secundarios responsables de otorgar aroma a ciertas especies de plantas y están compuestos en su mayoría por terpenoides.<sup>(66)</sup></p> <p>Los aceites esenciales de los extractos de rosmarinus officinalis son reconocidos por la comunidad científica internacional por sus propiedades antisépticas, analgésicas, astringentes, antiespasmódicas, antibacterianas, antiinflamatorias.<sup>(12)</sup></p>	<p>Se operacionalizará mediante su descomposición y la obtención de aceite para determinar su efecto <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p><b>La población será dividida en los siguientes grupos:</b></p> <p>a) Dilución de romero al 100%</p> <p>b) Dilución de romero al 75%</p> <p>c) Dilución de romero al 50%</p> <p>d) Dilución de romero al 25%</p> <p>e) Cefepime</p> <p>f) Agua destilada</p>	<p>Concentraciones de Rosmarinus officinalis "romero"</p> <p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG5</p> <p>RG6</p>	<b>Cualitativa nominal</b>
<i>efecto antibacteriano sobre Pseudomonas aeruginosa</i>	<p>Es la propiedad de ciertas sustancias de eliminar o inhibir el crecimiento de agentes bacterianos sin causar daño al organismo portador de los mismos.<sup>(30)</sup></p>	<p>Se operacionalizará mediante los estándares M02-A12<sup>(67)</sup> Y M100<sup>(68)</sup></p>	<p>Si efecto antibacteriano: <math>\geq 17</math> mm</p> <p>No efecto antibacteriano: <math>\leq 16</math> mm</p>	<b>Cualitativa nominal</b>

## 2.4. Población y muestra



- **POBLACIÓN:** Esta constituida por todas las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo
- **MUESTRA:** Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la formula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación. Se obtendrá aplicando la siguiente fórmula estadística.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\bar{x}_1 = 17 \text{ mm Diámetro del halo de inhibición del Cefepime.}$$

$$\bar{x}_2 = 16 \text{ mm Diámetro del halo de no inhibición del Aceite esencial.}$$

$$\sigma: 11.6$$

$$n = 10$$

- **Unidad de análisis:** Cada uno de los cultivos de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*
- **Unidad de muestra:** Cada placa Petri con la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.
- **-Muestreo:** Censal
- **CRITERIOS DE SELECCIÓN:**
  - o **Criterios de inclusión:**
    - Placas Petri con cultivos de con la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*
    - Cepas cultivadas de 18 -24 horas.

- **Criterios de exclusión:**
  - Cepas que no crecieron en el medio de cultivo.
  - Cepas o muestra contaminada.

## **2.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

- **LA TÉCNICA** Consistirá en la observación directa de los cultivos en las placas Petri.

- **PROCEDIMIENTO:**

- **Recolección de la Muestra**

Se realizó la recolección de 10 kg de hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” de la ciudad de Cajamarca, específicamente procedentes del distrito de Yonán, (provincia de Contumazá, según coordenadas 7°14'18"S y 78°10'23"W) y del Centro Poblado de Agocucho, distrito de Cajamarca, según coordenadas 7°13'45"S y 78°28'37"W

- **Preparación de la muestra**

Las hojas recolectadas fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se procedió a descartar aquellas que presenten signos de enfermedad o descomposición como cambios de coloración o friabilidad.

Posteriormente se procedió al lavado con agua destilada de aquellas hojas que hayan sido seleccionadas anteriormente, seguido de la desinfección de las mismas con hipoclorito de sodio al 0.5% y nuevo lavado con agua destilada esta vez estéril, para eliminar los sobrantes de hipoclorito, dejando secar las hojas a temperatura ambiente para luego

preceder al proceso de molido y tamizaje hasta obtener un polvo homogéneo.

- **Obtención del aceite esencial**

El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* "romero" se obtuvo mediante la técnica de arrastre a vapor de agua. Se introdujo 100 g del polvo homogenizado previamente obtenido de las hojas con 500 ml de agua destilada en un recipiente de vidrio de 1000 ml de capacidad. Luego se sometió dicha solución a una corriente de vapor de agua en ebullición que posteriormente pasó por acción de la gravedad a través de un refrigerante produciéndose la condensación de la misma obtenido así el aceite esencial sin destilar, este proceso se repitió hasta obtener un aproximado de 1000ml de muestra.

Para la destilación de la misma de uso sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) el cual deshidrató las impurezas de agua y dejó el aceite esencial en su estado puro.

Finalmente se almacenó todo el aceite esencial obtenido en recipientes de vidrio ámbar para evitar de este modo su descomposición lumínica bajo una temperatura de entre a 4 y 8°C hasta la fase del análisis microbiológico. (41)

- **PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Rosmarinus officinalis* "Romero"**

Para la preparación de las concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* "romero" se utilizó como diluyente dimetil sulfóxido. Se prepararon 3 mL de aceite esencial de romero en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Estas diluciones se realizaron al momento del ensayo y se conservaron en frascos color ámbar.

- **REACTIVACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa***

Se reactivó la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en caldo BHI (infusión cerebro corazón) y se incubó a 35 °C durante 24 horas. Terminado el tiempo de incubación se observó la turbidez del cultivo y se realizó una coloración Gram del mismo para verificar la pureza del cultivo y observar la morfología característica de la bacteria, bacilos rectos o ligeramente curvados gram negativos. Una vez comprobada la reactivación y pureza del cultivo, se sembró en agar TSA (soya tripticasa) e incubó a 35° C por 24 horas con la finalidad de aislar colonias y obtener cultivos puros para su posterior uso. Los cultivos puros se conservaron a una temperatura de refrigeración entre 4 a 8 °C.

- **EFFECTO “*in vitro*” DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Rosmarinus officinalis* “Romero” SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Pseudomonas aeruginosa* COMPARADO CON CEFEPIME**

El efecto in vitro de las diferentes concentraciones de aceite esencial de las hojas de “Romero” se determinó mediante el método de Kirby-Bauer.

- **Preparación del inóculo:** A partir del cultivo puro de *P. aeruginosa*, se preparó una suspensión en solución salina fisiológica estéril (SSFE) y se estandarizó a la concentración aproximada de  $1.5 \times 10^8$  células/mL, equivalente al tubo N° 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland.
- **Inoculación de las placas:** Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión bacteriana y se extendió sobre toda la superficie de la placa con Agar Mueller-Hinton.

Posteriormente se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos y se colocaron de forma equidistante cuatro discos que contenían 30uL de aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Así también, en otra placa se colocaron discos controles, el control negativo contenía 30 uL de dimetil sulfóxido y el control positivo contenía 30 ug del antibiótico Cefepime. La incubación se realizó a 35°C durante 18 a 24 horas, transcurrido este tiempo se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento. En este ensayo se realizaron 10 repeticiones de las diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas de “romero” y 10 repeticiones de los controles positivo y negativo.

- **INSTRUMENTO:** El instrumento que se utilizó es la ficha de recolección de datos con el fin de observar los halos de inhibición a las 24 horas. (Ver Anexo 03)

## 2.6. VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

La validación de los instrumentos y los procedimientos usados en la investigación serán proporcionados por profesionales expertos de la Universidad Nacional de Trujillo, quienes asesoraron las diferentes etapas del estudio en laboratorio

## 2.7. Métodos de análisis de datos

La información obtenida fue tabulada en una hoja de Excel, y luego fueron analizados en el programa SPSS versión 21.1. Para los gráficos se utilizó el diagrama de cajas o bigotes. A partir de los resultados se aplicaron pruebas estadísticas para homogenizar la muestra y luego se recurrió al análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros. El análisis post ANOVA Tukey o Duncan permitió identificar la dilución con la que se obtendrá el mayor tamaño de halo de inhibición.

## **2.8. Aspectos éticos**

En el estudio se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud. Así mismo se consideró la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad De Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo

### III. RESULTADOS

TABLA 1.

Actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* a diferentes concentraciones

Concentraciones	n	Promedio	Desviacion Estandar	Cuartiles		
				1	2	3
100%	10	0	0	0	0	0
75%	10	0	0	0	0	0
50%	10	0	0	0	0	0
25%	10	0	0	0	0	0

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo

#### Descripción

Las medidas de los diámetros de halo inhibitorio en cada una de las concentraciones como son el promedio, la mediana y los cuartiles fueron cero por lo que la actividad antimicrobiana fue nula

TABLA 2.

Efecto antibacteriano del cefepime sobre *Pseudomonas aeruginosa*

Farmaco	n	Promedio	Desviacion Estandar	Cuartiles		
				1	2	3
Cefepime	10	30	3.23	28	29.5	30

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo

#### Descripción:

El diámetro promedio de halo inhibitorio encontrado en Cefeime fue de (30 mm) y una desviación estándar de 3.23 mm, con rango intercuartilico de 2 mm

**Tabla 3**

Comparación del efecto antibacteriano del cefepime y del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,200	4	1,800	862	0.000
Dentro de grupos	94	45	2		

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo

### Descripción:

La comparación del efecto realizado con el análisis de varianza de las diferentes concentraciones de aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) y cefepime permite establecer una diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre los efectos sobre *Pseudomonas aeruginosa* la cual resulta pertinente realizar un análisis pos anova para determinar el mejor tratamiento

**Tabla 4**

Post Anova del efecto antibacteriano del cefepime y del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

		subconjunto 0.05	
Tratamiento	n	1	2
25%	10	0	
50%	10	0	
75%	10	0	
100%	10	0	
Cefepime	10		30

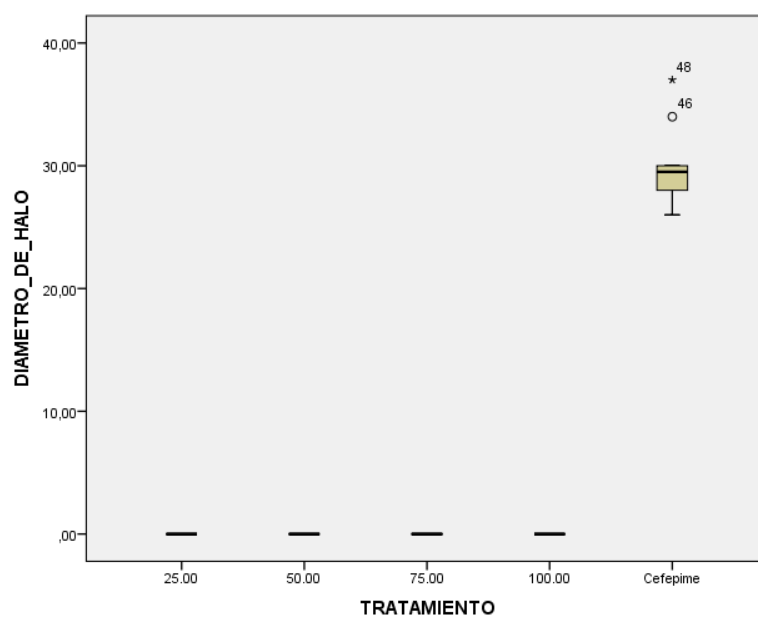
Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo

### Descripción:

El análisis Post Anova “test de tukey” indica hay 2 grupos con diferente efecto, el No Farmacológico como es aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) que resulto no tener efecto en cualquiera de sus concentraciones y que



existe una diferencia significativa con el efecto de tratamiento farmacológico entre el diámetro de Cefepime (30mm)



**Figura 1:**

Efecto antibacteriano del cefepime y del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

#### IV. DISCUSIÓN

*Pseudomonas aeruginosa* es un importante patógeno oportunista muy reconocido por su resistencia a un gran número de antimicrobianos convencionales.<sup>42</sup> Esta resistencia es conferida, principalmente, por el nivel de expresión de la bomba de flujo de salida.<sup>43</sup> De la amplia variedad de antibióticos utilizados, Cefepima, es uno de los pocos agentes restantes que tiene una actividad confiable contra *P. aeruginosa*. No obstante, debido a su amplio potencial neurotóxico<sup>44</sup> y a la aparición de nuevas cepas resistente al antibiótico<sup>45</sup>, los estudios se han centrado en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos como los aceites esenciales, los cuales han sido objeto estudio durante mucho tiempo.<sup>46</sup>

De acuerdo a los resultados obtenidos, el aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Rosmarinus officinalis* no presenta actividad antibacteriana (Tabla 1) sobre *P. aeruginosa* en ninguna de las concentraciones estudiadas (25%, 50%, 75% y 100%), lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Zaouali et al.<sup>47</sup>, quienes determinaron que algunas variedades de *R. officinalis* no inhiben el crecimiento de *P. aeruginosa* ATCC 9027. Sin embargo, estos datos no se asemejan a lo hallado por Mekonnen et al.<sup>48</sup>, quienes reportaron que los aceites esenciales de *R. officinalis* presentan actividad con diámetros de inhibición de crecimiento de hasta 17 mm frente a *P. aeruginosa* de origen clínico. Además, Rashid<sup>49</sup> también encontró el mismo efecto a dosis entre 64 µL/mL y 512 µL/mL con diámetros de inhibición mayores a 18 mm sobre *P. aeruginosa*.

Estas discrepancias halladas en la actividad antibacteriana del aceite esencial de *R. officinalis* podría recaer en su composición química. La presencia y ausencia de determinadas moléculas podrían determinar sus propiedades. Estudios fitoquímicos señalan que las hojas de *R. officinalis* presentan un gran número de moléculas con propiedades antibacterianas como son:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, alcanfor, canfeno, ésteres terpénicos como el alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y  $\beta$ -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina,  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, borneol, y acetato de bornilo<sup>50</sup>.

No obstante, no solo la presencia de estas moléculas determina sus propiedades antibacterianas, sino también su concentración. Entre todos estos compuestos, el  $\alpha$ -pineno, 1,8-cineol, y alcanfor se encuentran normalmente en mayor proporción que los otros, lo cual indicaría que estos son los principios activos de *R. officinalis*. Su presencia porcentual depende en gran medida de la variedad, así como de los bioclimas en donde crece.<sup>48</sup> Las condiciones climáticas como el suelo, clima y la altura sobre el nivel del mar generan diferentes cambios en la cantidad y tipos de moléculas presentes.<sup>51</sup> Reportes indican que las plantas que crecen en suelos silíceos presentan mayores concentraciones de  $\alpha$ -pineno,<sup>52</sup> lo cual reflejaría una posible baja concentración de este compuesto en el aceite esencial en estudio, debido a que la zona de recolección de la muestra se caracteriza por la presencia predominante de suelos del tipo calcáreo sobre los suelos del tipo silíceo.<sup>53</sup>

Además, algunos estudios señalan que una baja concentración de  $\alpha$ -píneno (10-12%) en el aceite esencial de *R. officinalis* se correlaciona con una ausencia o limitada actividad antibacteriana frente a *P. aeruginosa*. Esto es corroborado por la ausencia de esta actividad en una gran diversidad de extractos acuosos e hidroalcohólico provenientes de *R. officinalis*.<sup>54</sup> Estos preparados carecen de moléculas de baja polaridad como el  $\alpha$ -píneno y alcanfor, aislados comúnmente de extractos hexánicos.<sup>55</sup> En adición a esto, se ha demostrado que los aceites con un porcentaje mayor al 50% de  $\alpha$ -píneno presentan actividad frente a *P. aeruginosa*.<sup>48</sup>

La presencia de alcanfor en concentraciones mayores al 20% en el aceite también se correlaciona con una inhibición del crecimiento de *P. aeruginosa*.<sup>49</sup> Por otra parte, a pesar que el 1.8-cineol exhibe actividad antimicrobiana contra diversas cepas bacterianas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, y *Bacillus subtilis*<sup>56,57,58</sup>, su alta concentración en los aceites esenciales no determina necesariamente una actividad antibacteriana significativa sobre *P. aeruginosa*.<sup>47</sup>

La tolerancia de *P. aeruginosa* a los aceites esenciales de diferentes especies esta reportada.<sup>59</sup> Varios son los mecanismos que pueden facilitar esta susceptibilidad reducida, incluida la permeabilidad reducida de la membrana externa y los sistemas de eflujo activos.<sup>60</sup> La bomba de eflujo MexAB-OprM de *P. aeruginosa* ha sido hallada como la responsable de este mecanismo y la resistencia a diversos antibióticos.<sup>61</sup> Se ha demostrado que

esta bomba de eflujo es capaz de interferir con la actividad antimicrobiana de 1.8-cineol, limitando su eficacia.

*Molecularmente*, está comprobado la capacidad del  $\alpha$ -pineno para inhibir bombas de eflujo en microorganismos.<sup>62</sup> Un estudio indicó que el  $\alpha$ -pineno presente en las semillas de *Alpinia Katsumadai*, inhiben la actividad de CmeABC y Cj1687, bombas de eflujo presentes en *Campylobacter jejuni*, aumentando su susceptibilidad a la ciprofloxacina, eritromicina y triclosan.<sup>63</sup> Todos estos datos indicarían la posible carencia de este compuesto en el aceite esencial aislado de *R. officinalis*, debido a principalmente a las condiciones climáticas donde creció.

Finalmente, el grupo comparativo determinado por Cefepime evidenció una alta actividad antimicrobiana (= 30 mm) sobre *P. aeruginosa* (Tabla 1). Esto indicaría que el aislado clínico en este estudio no presenta un mecanismo de resistencia acoplado a las bombas de eflujo. No obstante, se ha reportado que la sobreexpresión de las bombas de eflujo MexA-MexB-OprM no da lugar a la pérdida de eficacia de Cefepime, independientemente de la concentración de inóculo bacteriano, lo cual no permite descartar la presencia de esta bomba en el aislado clínico.<sup>64</sup>

El presente estudio resalta la importancia de la naturaleza de la muestra de estudio y de las condiciones climáticas donde se realizó su crecimiento. Parámetros como la composición química y presencia porcentual de cada componente en las hojas de *R. officinalis* puede cambiar drásticamente los

resultados, que nos conlleva a interpretaciones erróneas. Por otra parte, esta investigación demuestra que los aislados clínicos de *P. aeruginosa* pueden presentar diferentes niveles de tolerancia, no solo a los antibióticos sino también a algunos componentes de los aceites esenciales.<sup>65</sup>

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

- El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “Romero” no tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*.
- El antibiótico Cefepime presenta efecto inhibitorio sobre *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Pseudomonas aeruginosa* es considerada como resistente al aceite esencial de *R. officinalis* y sensible frente al Cefepime, en estudio in vitro, según los criterios del estándar M100 del CLSI.
- Según los resultados, se rechaza la hipótesis alterna de investigación y se acepta la hipótesis nula.

## VI. RECOMENDACIONES

- Determinar la composición química y porcentual de cada componente del aceite esencial de *R. officinalis* aislado mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS)
- Determinar la variación temporo-espacial de los componentes químicos del aceite esencial *R. officinalis* proveniente de la Ciudad de Cajamarca.
- Realizar estudios ecogeográfico para determinar las variedades de *R. officinalis* presentes en la Ciudad de Cajamarca.
- Evaluar el efecto antibacteriano de aceites esenciales de *R. officinalis* obtenidos en diferentes espacio-tiempo sobre el crecimiento de *P. aeruginosa*
- Evaluar el efecto del  $\alpha$ -pineno proveniente del aceite esencial de *R. officinalis* sobre cepas de *P. aeruginosa* con sobreexpresión de bombas de eflujo de salida.
- Evaluar el efecto sinérgico del  $\alpha$ -pineno de *R. officinalis* y el Cefepime sobre cepas de *P. aeruginosa* con resistencia a este antibiótico.
- Se debe profundizar estudios sobre el método de obtención de los componentes antibacterianos del *R. officinalis* como por ejemplo el método de dilución tubos de ensayo.



## REFERENCIAS

1. [Daniel Ángel Luján Roca. *Pseudomonas aeruginosa: un adversario peligroso*. Acta Bioquím Clín Latinoam 2014; 48 (4): 465-74. (Citado: 21/07/17). Disponible: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572014000400009](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400009).
2. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Más de 35.000 personas mueren cada año en España como consecuencia de las bacterias multirresistentes, EFE, 2018
3. Teresita Somogyi Et. Al. "Infecciones del tracto respiratorio: etiología bacteriana y viral en una población pediátrica", Revista Médica del Hospital Nacional de Niños, Dr. Carlos Sáenz Herrera, 1998, Costa Rica. ISSN 1017-8546
4. Centro de Control de Enfermedades, Las superbacterias amenazan a los pacientes en los hospitales, 2017, EE.UU
5. Dr. José Juan Morales A., Dra. Joyce Andrade V. Factores asociados a mortalidad y patrones de susceptibilidad antibiótica en bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.2006; 63(4). (Citado: 21/07/17). en: [www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-11462006000500002](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462006000500002)
6. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasa clásica y de espectro extendido en reservorios de un servicio de neonatología, Rev. Perú. med. exp. Salud Pública v.25 n.2 Lima abr./jun. 2008
7. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, Metallo- $\beta$ -lactamasas en aislamientos clínicos de *pseudomonas aeruginosa* en Lima, Perú, Volumen 30 (2), Lima Perú
8. Hader I. Castaño P, Gelmy Ciro G, José E. Zapata M, Silvia L. Jiménez R. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. Rev. Fac. Química Farmacéutica 2010; 17(2): 149-154. (Citado: 21/07/17).

Disponible:

<http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/viewFile/6334/5835>

9. Ozgur Ceylan, Aysel Uğur , Nurdan Saraç , Filiz Ozcan , Tuba Baygar. The in vitro antibiofilm activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil against multiple antibiotic resistant *Pseudomonas* sp. and *Staphylococcus* sp. J. Agriculture & Environment 2014; 12 (3,4): 82-86. (Citado: 21/07/17). En: [http://world-food.net/download/journals/2014-issue\\_3\\_and\\_4/2014-issue\\_3\\_and\\_4-food/f13.pdf](http://world-food.net/download/journals/2014-issue_3_and_4/2014-issue_3_and_4-food/f13.pdf)
10. Cordeiro C. et al Análisis farmacológico de la actividad antibacteriana de los extractos de plantas utilizados en la formulación para la higiene bucal. Rev. Brasileira de Ciencias. 2006; 42(3):395-404. (Citado: 21/07/17). Disponible en : <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal>
11. Rodríguez Y, Espinoza S, Vergara M, Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. “Romero” sobre el crecimiento *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev. Salud & Vida Sipanense. 2014; 1(2). (Citado: 21/07/17). Disponible en : <file:///C:/Users/Erick/Downloads/65-253-1-PB.pdf>
12. Isabel de María San Román Suárez, Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2013, Lima Perú
13. Adriana Marcela Ramos Pencue, “Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales e hidrosoles de *Rosmarinus officinalis* y *Taraxacum officinale* frente a microorganismos patógenos”, Pontificia Universidad Javeriana, 2013, Colombia
14. William Eduardo Salirrosas Tello, Efecto Antibacteriano In Vitro del Aceite Esencial de *Rosmarinus officinalis* (ROMERO) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”, Universidad Nacional de Trujillo, 2016, Trujillo, Perú
15. Raquel Mary Rocha Morales “Efecto Antibacteriano In Vitro del Aceite Esencial del *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Univertsidad Nacional de Trujillo, 2016, Trujillo Perú

16. Cueva Rosales, Javier "Actividad Antimicrobiana del Aceite Esencial de Romero (*Rosmarinus officinalis*) Frente al Crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC25175 in vitro. Lima, 2016, (2017), Universidad Privada Norbert Wiener, Lima Perú.
17. Mandell G, Benntt J. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. 7° Edición, Madrid: Elseiver.2010. (Citado: 10/07/17).
18. Murray, Rosenthal, Pfaller. Microbiología Médica .7° Edición, Madrid: Elseiver.2014.
19. María Milagro Montero. *Pseudomonas Aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos (Tesis Doctoral). Barcelona: Universidad Autnoma de Barcelona, Departamento de Medicina.2012. (Citado: 10/07/17).
20. Robert Wilson, Ruth B Dowling. *Pseudomonas aeruginosa* and other related species. Thorax 1998; 53 (3): 213-9. (Citado: 10/07/17). Disponible en: <http://thorax.bmj.com/content/53/3/213>
21. Murray, Rosenthal, Pfaller. Microbiología Médica .7° Edición, Madrid: Elseiver.2014.
22. Chatterjee M, Anju CP, Biswas L, Anil Kumar V, Gopi Mohan C, Biswas R. et all .Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. Int J Med Microbiol. 2016 Jan; 306(1):48-58. (Citado: 10/07/17). Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26687205>
23. Taylor Pitágoras Purca Peña. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanolito de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival (Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.2013. (Citado:10/07/17)
24. Tovar O. Plantas medicinales del valle del Mantaro. Lima, Perú.2001. (Citado: 10/07/17).
25. Kim SY, Lee IS, Park SL, Lee J. Cefepime neurotoxicity in patients with renal insufficiency. Ann Rehabil Med. 2012 Feb; 36(1):159-62. Epub 2012.
26. Tam VH, McKinnon PS, et al. Pharmacodynamics of cefepime in patients with Gram-negative infections. J Antimicrob Chemother. 2002 Sep; 50(3):425-8.

27. Dr. Oscar García Messina (2016). Acción terapéutica. Antibiótico Cefepime. Revista de la Sociedad de Medicina Interna de Buenos Aires (rev.12, pag.11-13).
28. Raúl Avila S, Addí Navarro C, Obdulia Vera L, Rosa Dávila-M, Nohemí Melgoza P, Ramón Meza P. El romero Planta aromática con efectos antioxidantes. 2008; 27 (7): 60-64. (Citado: 10/07/17). Disponible en: <http://www.umar.mx/revistas/43/0430103.pdf>
29. Leading Media Group, CCM - Salud y bienestar - Ccm.net, <http://www.ccmbenchmark.com/>
30. J. Gómez, M. Alcántara, E. Simarro, B. Martínez, J. Ruiz, B. Guerra. Et all. Bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiología, clínica y tratamiento. Estudio prospectivo de siete años. Rev. Esp. Quimioterapia. 2002; 15(4).360-365. (Citado: 10/07/17). Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/15/4/360.pdf>
31. Jully Pahola Calderón Saldaña, Luis Alzamora D. Estadísticas para la tesis de postgrado. 2da Edición. Madrid. 2011
32. Driscoll J, Brody SI, Kollef MH. The Epidemiology, Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas Aeruginosa* Infections, Drugs 2017; 67(3):351-368, (Citado: 10/07/17). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17335295>
33. A clinical approach to managing *Pseudomonas aeruginosa* infections. British Journal of Hospital Medicine. 2016;77. (4). (Citado: 10/07/17). Disponible en: <https://www1.imperial.ac.uk/resources/6B123358-8FB1-4208-BCB536BD1DCA BD93/hmed2e20162e772e42ec50.pdf>
34. María de Jesús Colmenero Estrada, Alfredo Sánchez Oviedo. Estadística bacteriológica de las infecciones nosocomiales en el Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos. Nueve años de seguimiento. Rev. Esp. Médico-Quirúrgicas 2008; 13(1):3-7. (Citado: 21/07/17). Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/473/47316103002.pdf>
35. Armando Rojas I, José Caballero L, Juan Villareal M. Epidemiología de las infecciones intrahospitalarias por *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Arzobispo Loayza. Act. Med. Per. 20 (3). (Citado: 21/07/17). Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/acta\\_medica/2003\\_n3/pdf/a02.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/acta_medica/2003_n3/pdf/a02.pdf)

36. Abdullah Ijaz H, Farooq A, Shahzad Ali Shahid C, Abdul J, Shahid M, Poonam S, Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. Brazilian Journal of Microbiology 2010; 41: 1070-1078. (Citado: 21/07/17). en : [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-83822010000400027](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822010000400027)
37. Font Quer P. Plantas medicinales: El Dioscórides renovado. 3<sup>ra</sup> Edición. Barcelona.1992. (Citado: 10/07/17).
38. Muñoz L. Estudio taxonómico, cronológico y autoecológico de las plantas medicinales españolas. 1<sup>ra</sup> Edición. Salamanca.2002.
39. Juan J. Picazo. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.1<sup>ra</sup> Edición. Madrid.2000.
40. Jully Pahola Calderón Saldaña, Luis Alzamora D. Estadísticas para la tesis de postgrado.2<sup>da</sup> Edición. Madrid.2011.
41. William E. Salirrosas Tello, (2016), “Efecto Antibacteriano IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* (Romero) SOBRE *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú.
42. Nakae T, Nakajima A, Ono T, Saito K, Yoneyama H. Resistance to beta-lactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay between the MexAB-OprM efflux pump and beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. Mayo de 1999; 43(5):1301-3.
43. Li XZ, Livermore DM, Nikaido H. Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to tetracycline, chloramphenicol, and norfloxacin. Antimicrob Agents Chemother. agosto de 1994;38(8):1732
44. Payne LE, Gagnon DJ, Riker RR, Seder DB, Glisic EK, Morris JG, et al. Cefepime-induced neurotoxicity: a systematic review. Crit Care. 14 de noviembre de 2017;21(1):276.

45. Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Lautenbach E. Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerging Infect Dis.* junio de 2011; 17(6):1037-43.
46. Kavanaugh NL, Ribbeck K. Selected antimicrobial essential oils eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* biofilms. *Appl Environ Microbiol.* junio de 2012;78(11):4057-61.
47. Zaouali Y, Bouzaine T, Boussaid M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem Toxicol.* noviembre de 2010;48(11):3144-52.
48. Mekonnen A, Yitayew B, Tesema A, Taddese S. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *Int J Microbiol.* 2016; 2016:9545693.
49. Rashid KI. Antimicrobial Activity of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) Leaf Essential Oils Against Three Bacterial Species. *Al- Mustansiriya J. Sci.* 2010; 21(4):8.
50. El-Hosseiny L, El-Shenawy M, Haroun M, Abdullah F. Comparative Evaluation of the Inhibitory Effect of Some Essential Oils with Antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antibiotics.* 2014; 2014:1-5.
51. Miguel MG, Guerrero C, Rodrigues H, Brito J. Essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., effect of harvesting dates, growing media and fertilizers. *Greece.* 2007. 24(2): 65-70

52. Ormeño E, Baldy V, Ballini C, Fernandez C. Production and diversity of volatile terpenes from plants on calcareous and siliceous soils: effect of soil nutrients. *J Chem Ecol.* septiembre de 2008;34(9):1219-29.
53. Poma W, Alcántara GH. Estudio de Suelos y capacidad de uso mayor del departamento de Cajamarca. Gobierno Regional de Cajamarca. 2012. 82 p.
54. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, Xuan J, Charles F, Chen M, et al. Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Front Microbiol.* 2018; 9:1639.
55. Maimulyanti A, Prihadi AR. Chemical composition of essential oil and hexane extract and antioxidant activity of various extracts of *Acmella uliginosa* (Sw.) Cass flowers from Indonesia. *Agriculture and Natural Resources.* julio de 2016;50(4):264-9.
56. Derwich E, Benziane Z, Chabir R, Taouil R. In vitro antibacterial activity and gc/ms analysis of the essential oil extract of leaves of *rosmarinus officinalis* grown in morocco. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2011;3(3):7.
57. Luqman S, Dwivedi GR, Darokar MP, Kalra A, Khanuja SPS. Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. *Altern Ther Health Med.* octubre de 2007; 13(5):54-9.
58. Hussain AI, Anwar F, Chatha SAS, Jabbar A, Mahboob S, Nigam PS. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Braz J Microbiol.* octubre de 2010;41(4):1070-8.
59. Gomes Neto NJ, da Silva Luz I, Honório VG, da Conceição ML, de Souza EL. *Pseudomonas aeruginosa* cells adapted to *Rosmarinus officinalis* L.

- essential oil and 1,8-cineole acquire no direct and cross protection in a meat-based broth. *Food Res Int.* 1 de noviembre de 2012;49(1):143-6.
60. Longbottom CJ, Carson CF, Hammer KA, Mee BJ, Riley TV. Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil is associated with the outer membrane and energy-dependent cellular processes. *J Antimicrob Chemother.* agosto de 2004;54(2):386-92.
61. Papadopoulos CJ, Carson CF, Chang BJ, Riley TV. Role of the MexAB-OprM efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* in tolerance to tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its monoterpene components terpinen-4-ol, 1,8-cineole, and alpha-terpineol. *Appl Environ Microbiol.* marzo de 2008;74(6):1932-5.
62. Blanco P, Sanz-García F, Hernando-Amado S, Martínez JL, Alcalde-Rico M. The development of efflux pump inhibitors to treat Gram-negative infections. *Expert Opin Drug Discov.* octubre de 2018;13(10):919-31.
63. Kovač J, Šimunović K, Wu Z, Klančnik A, Bucar F, Zhang Q, et al. Antibiotic resistance modulation and modes of action of (-)- $\alpha$ -pinene in *Campylobacter jejuni*. *PLoS ONE.* 2015;10(4):e0122871.
64. Ong CT, Tessier PR, Li C, Nightingale CH, Nicolau DP. Comparative in vivo efficacy of meropenem, imipenem, and cefepime against *Pseudomonas aeruginosa* expressing MexA-MexB-OprM efflux pumps. *Diagn Microbiol Infect Dis.* febrero de 2007;57(2):153-61.
65. Talebi-Taher M, Majidpour A, Gholami A, Rasouli-Kouhi S, Adabi M. Role of efflux pump inhibitor in decreasing antibiotic cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in a burn hospital in Iran. *J Infect Dev Ctries.* 30 de junio de 2016;10(6):600-4.



66. M. Transito Lopez .Los aceites esenciales Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. VOL 23 NÚM 7 .Elsevier España Agosto 2004.
67. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Suceptibility Test; Approved Standard- Twelfth Edition. CLSIX document M02-A12. Wayne, .PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
68. CLSI. Performance Standards for Antimicrobia-AI Suceptibility Testing 28<sup>th</sup> ed. CLSI supplement M100. Wayne, P.A: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

|

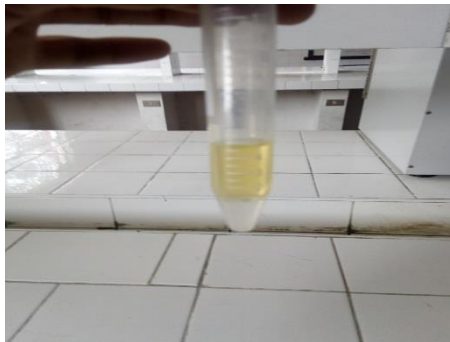
## ANEXOS

### Anexo 01: Ficha de recolección de datos

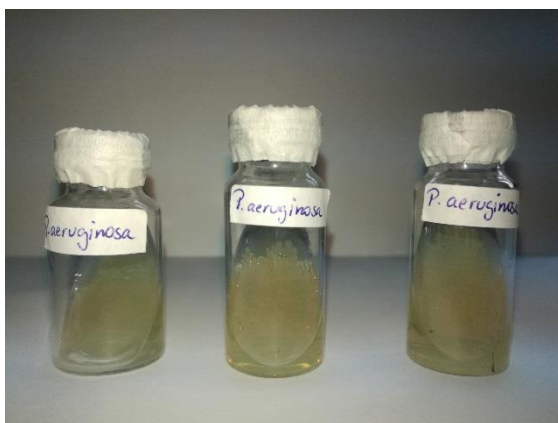
Cultivos de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Diluciones del aceite esencial de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero"				Control positivo con Cefepime	Control negativo con agua destilada	Tamaño de halo de inhibición
	25%	50%	75%	100%			
Cultivo N°01							
Cultivo N°02							
Cultivo N°03							
Cultivo N°04							
Cultivo N°05							
Cultivo N°06							
Cultivo N°07							
Cultivo N°08							
Cultivo N°09							
Cultivo N°10							

## Anexo 02: Evidencia Fotográfica

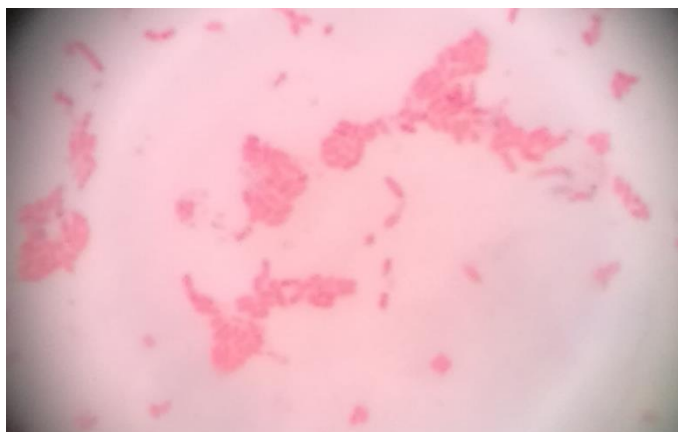
### 01: OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Rosmarinus officinalis* “ROMERO”



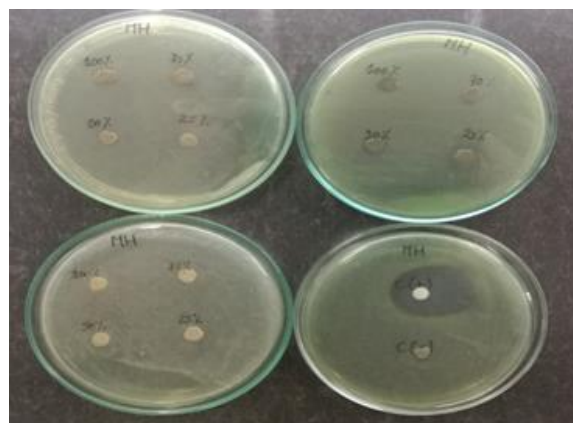
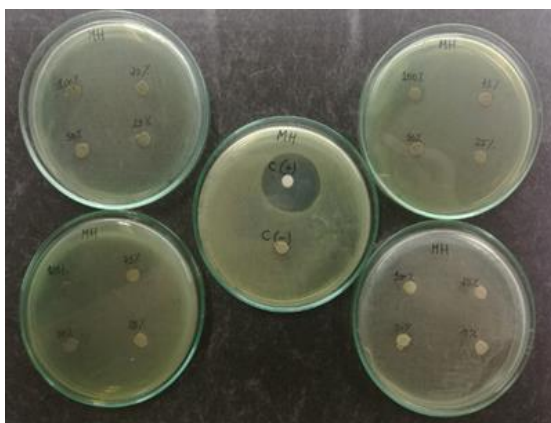
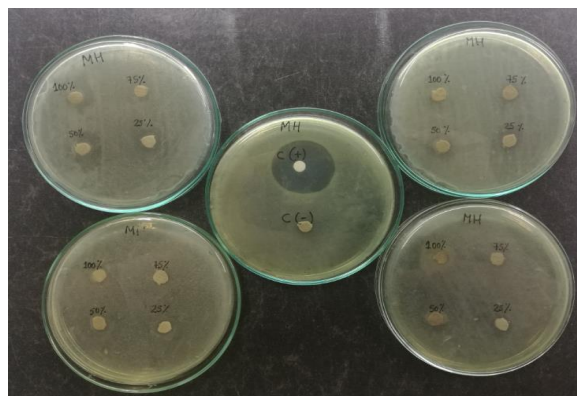
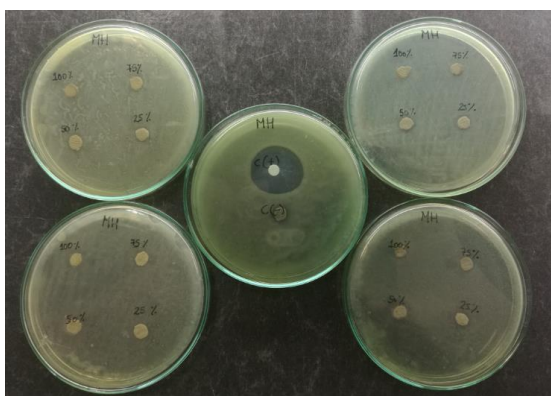
### CULTIVOS PUROS DE *Pseudomonas aeruginosa*



### 03: COLORACIÓN GRAM DE *Pseudomonas aeruginosa*

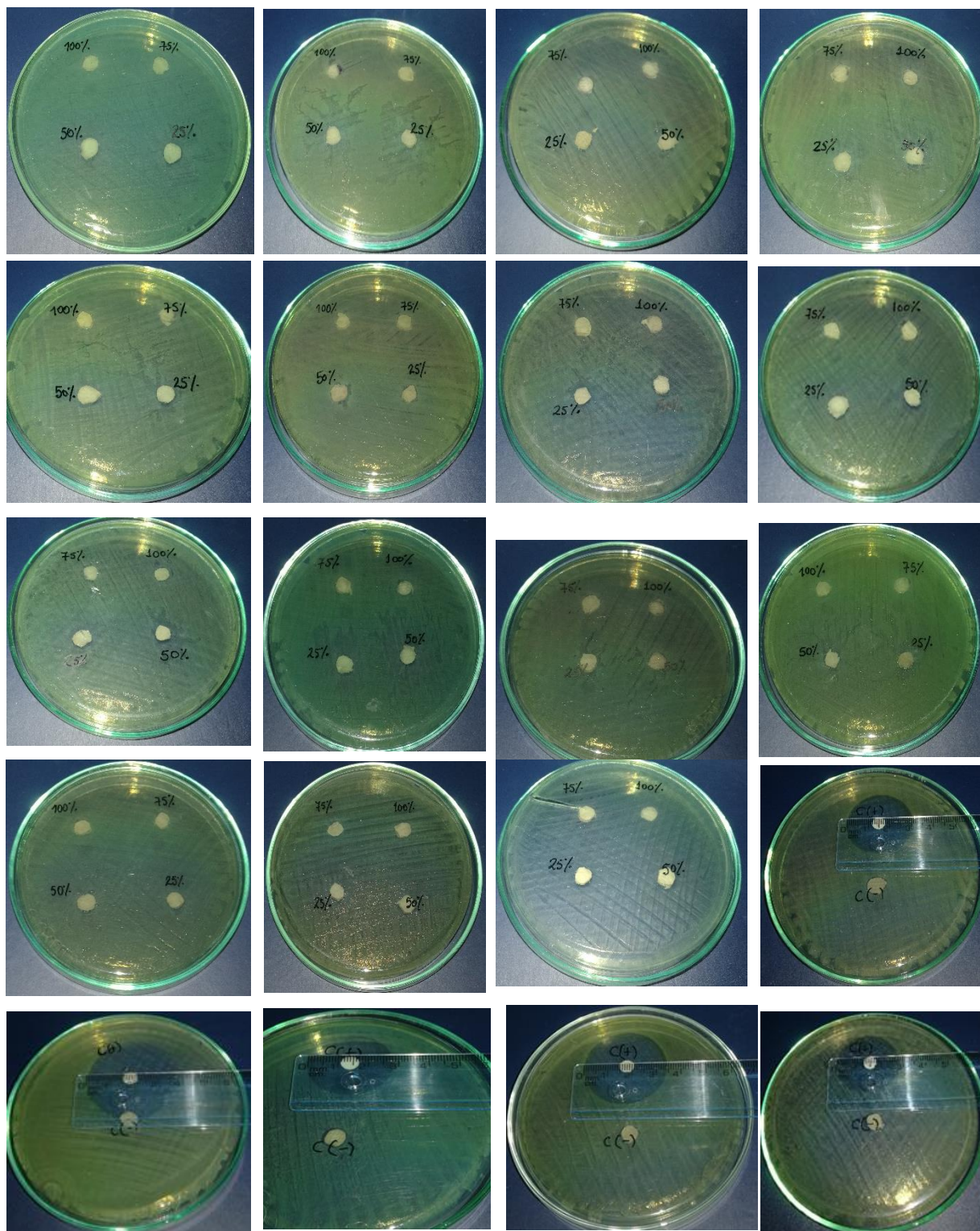


### 04: CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Pseudomonas aeruginosa* FRENTE A CONCENTRACIONES DE ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* “Romero”, DIMETIL SULFÓXIDO Y CEFEPIME (CONTROL NEGATIVO Y POSITIVO, RESPECTIVAMENTE). PRIMER ENSAYO.





**05: CRECIMIENTO BACTERIANO DE *Pseudomonas aeruginosa* FRENTE A CONCENTRACIONES DE ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* “Romero”, DIMETIL SULFÓXIDO Y CEFEPIME (CONTROL NEGATIVO Y POSITIVO, RESPECTIVAMENTE). SEGUNDO ENSAYO.**



### Anexo N° 03: Constancia Taxonómica del Rosmarinus Officinalis L.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA  
Fundada por ley 14015 del 12 de febrero de 1963  
"Núcleo de la Universidad Peruana"  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ÁREA DE BOTÁNICA  
HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"

#### CONSTANCIA

El que suscribe;

Director del Herbario CPUN "Isidoro Sánchez Vega", hace constar; que después de haber analizado y comparado las dos (2) muestras botánicas (ramas floríferas) procedentes, la primera, del distrito de Yonán-Contumazá (Coordenadas: 7°14'18"S y 78°10'23"W) y la segunda, procedente del poblado de Agocucho distrito de Cajamarca (Coordenadas: 7°13'45"S y 78°28'37"W), se ha llegado a la conclusión que ambas corresponden, taxonómicamente, al vegetal:

Especie: *Rosmarinus officinalis* L.

Familia: Lamiaceae

Orden: Lamiales

N. v. : "Romero"

Lo que se extiende para su conocimiento y demás fines.

Cajamarca, 14 de agosto de 2018

MSc. Gustavo Iberico Vela  
DIRECTOR